



REC'D 11 MAR 2005  
WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 23 DEC. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Martine Planche'.

Martine PLANCHE

### DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA RÈGLE  
17.1. a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
[www.inpi.fr](http://www.inpi.fr)





INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

1er dépôt

## BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

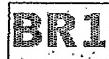
Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*03

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 210502

|  |                     |                  |
|--|---------------------|------------------|
| REMISE DES PIÈCES  |                     | Réservé à l'INPI |
| DATE   | 22 DEC 2003         |                  |
| LIEU   | 75 INPI PARIS 34 SP |                  |
| N° D'ENREGISTREMENT  | 0315160             |                  |
| NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI                                     |                     |                  |
| DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE  |                     |                  |
| PAR L'INPI   |                     |                  |
| 22 DEC. 2003   |                     |                  |
| Vos références pour ce dossier<br>( facultatif ) BIF116197/FR/EP |                     |                  |

|   |  |
|---|--|
| Confirmation d'un dépôt par télécopie   | <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie |
| <b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b>   |  |
| Demande de brevet   | <input checked="" type="checkbox"/>                            |
| Demande de certificat d'utilité   | <input type="checkbox"/>                                       |
| Demande divisionnaire   | <input type="checkbox"/>                                       |
| <i>Demande de brevet initiale</i>   | <input type="checkbox"/>                                       |
| <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>                                | <input type="checkbox"/>                                       |
| Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> | <input type="checkbox"/>                                       |
|   | Date    [      ]   |
|   | N°   |
|   | Date    [      ]   |
|   | N°   |
|   | Date    [      ]   |

**3 TITRE DE L'INVENTION** (200 caractères ou espaces maximum)

Nouveau dérivé de la morphine-6-glucuronide, composition pharmaceutique le contenant et son utilisation pour le traitement de la douleur.

|  |                      |  |
|--|----------------------|--|
| <b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ<br/>OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE<br/>LA DATE DE DÉPÔT D'UNE<br/>DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b> |                      | Pays ou organisation<br>Date [      ] N°   |
|  |                      | Pays ou organisation<br>Date [      ] N°   |
|  |                      | Pays ou organisation<br>Date [      ] N°   |
| <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »                       |                      |  |
| <b>5 DEMANDEUR</b> (Cochez l'une des 2 cases)  |                      | <input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique |
| Nom<br>ou dénomination sociale   |                      | SYNT:EM  |
| Prénoms  |                      | Société Anonyme  |
| Forme juridique  |                      | [      ]   |
| N° SIREN   |                      | [      ]   |
| Code APE-NAF   |                      | Parc Scientifique et Technique,<br>G.Besse-Allée Charles Babbage                               |
| Domicile<br>ou<br>siège  | Rue                  | [      ]   |
|  | Code postal et ville | 13 01 9 0 0 NIMES  |
|  | Pays                 | FRANCE   |
| Nationalité  |                      | FRANCAISE  |
| N° de téléphone ( facultatif )   |                      | N° de télécopie ( facultatif )   |
| Adresse électronique ( facultatif )  |                      |  |
| <input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »                      |                      |  |

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page

**BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ**
**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**

page 2/2

**BR2**

REMISE DES PIÈCES

Réservé à l'INPI

DATE

**22 DEC 2003**

LIEU

**75 INPI PARIS 34 SP**

N° D'ENREGISTREMENT

**0315160**

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 210502

**6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)**

Nom

Prénom

Cabinet ou Société

N ° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel

**BIF116197/FR/EP****SANTARELLI**

Adresse

Rue

14 Avenue de la Grande Armée

Code postal et ville

**175 0 17 PARIS**

Pays

**FRANCE**

N° de téléphone (facultatif)

**01 40 55 43 43**

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

**7 INVENTEUR (S)****Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques** Oui Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)**8 RAPPORT DE RECHERCHE****Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)**

Établissement immédiat ou établissement différé

Paiement échelonné de la redevance  
(en deux versements)**Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt** Oui Non**9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES****Uniquement pour les personnes physiques** Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) Obtenu antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG**10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS** Cochez la case si la description contient une liste de séquences

Le support électronique de données est joint

La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe

Si vous avez utilisé l'imprimé « Suite », indiquez le nombre de pages jointes

**11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE**

(Nom et qualité du signataire)

Catherine ULMANN N° 02.0405

SANTARELLI

**VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI**

M. ROCHET

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de la morphine 6-glucuronide, leur procédé de préparation ainsi que leurs utilisations en thérapie, notamment en tant qu'analgésiques.

5 La morphine est actuellement l'analgésique le plus utilisé dans le traitement des douleurs de moyenne et de grande intensité. On distingue au niveau du système nerveux central trois classes principales de récepteurs opioïdes :  $\mu$  (mu),  $\kappa$  (kappa) et  $\delta$  (delta). La morphine, de même que d'autres opioïdes, produisent leurs principaux effets sur le système nerveux central et le  
10 système digestif par l'intermédiaire des récepteurs  $\mu$ -opioïdes. Il existe deux sous-types de récepteurs  $\mu$ : le type  $\mu_1$  de très haute affinité et faible capacité, et le type  $\mu_2$  de basse affinité et forte capacité (Pasternak & Wood, 1986. *Life Sci* 38 :1889-1898). La liaison aux récepteurs  $\mu_1$  entraîne une réaction analgésique de type supraspinal et la diminution du turnover de l'acétylcholine,  
15 tandis que la liaison aux récepteurs  $\mu_2$  entraîne une réaction analgésique de type spinal et est responsable de la dépression respiratoire et de l'inhibition du transit intestinal.

Les mécanismes par lesquels la morphine exerce son action analgésique ne sont pas encore complètement élucidés. On sait qu'elle subit  
20 un important métabolisme, qui conduit à des métabolites dont certains contribuent à son action analgésique. Le foie apparaît comme le site principal de sa biotransformation. La morphine subit principalement une glucuronidation énantiomére sélective catalysée par l' UDP-glucuronyltransférase (UGT) qui conduit à la formation de deux métabolites : la morphine-3-glucuronide (ci-après  
25 également désignée « M3G ») et la morphine-6-glucuronide (ci-après également désignée « M6G »).

Il a été démontré que la modification de la position 3-hydroxy de la morphine diminuait l'activité analgésique, alors que des modifications de la position 6-hydroxy peuvent, au contraire, augmenter l'activité analgésique  
30 (Aderjan & Skopp, 1998, Therapeutic Drug Monitoring 20 :561-569).

Ainsi, la M3G n'a pas d'affinité pour les récepteurs opioïdes et ne participe pas à l'activité analgésique de la morphine.

En revanche, la morphine-6-glucuronide a une forte affinité pour les récepteurs opioïdes et il a été démontré qu'elle a un effet analgésique aussi bien chez les rongeurs que chez l'homme.

- La M6G a été décrite comme étant un analgésique plus puissant que
- 5 la morphine elle-même après une administration centrale (Paul et al, 1989. J Pharmacol. Exp. Ther. 49 ; 6280-6284 ; Frances et al, 1992. J Pharmacol. Exp. Ther. 262 ; 25-31) et ayant la même activité par voie systémique. Des études de liaison ligand-récepteur aux opiacés réalisées *in vitro* ont montré que la M6G se liait aux récepteurs opioïdes et qu'elle était 3 à 5 fois moins affine pour
- 10 les récepteurs  $\mu$  que la morphine (Christensen & Jorgensen 1987. Pharmacol Toxicol.60 :75-76 ; Frances et al, 1992 J Pharmacol. Exp. Ther. 262 ; 25-31).

D'autres métabolites de la morphine, en particulier la normorphine, ont montré une certaine activité analgésique. Cependant, ces autres métabolites sont présents en de faibles concentrations et ne sont pas

15 susceptibles de contribuer de manière significative à l'effet global de la morphine.

Toutefois, malgré sa grande efficacité, le traitement de la douleur par la morphine s'accompagne d'effets secondaires indésirables tels que : dépression respiratoire, inhibition du transit intestinal, nausées, vomissements,

20 et surtout syndrome de dépendance et induction de tolérance.

On a donc cherché à mettre au point d'autres substances actives, présentant une efficacité analgésique comparable à la morphine, mais n'ayant pas tout ou partie de ses effets secondaires indésirables.

Bien entendu, en raison de son activité analgésique exposée plus

25 haut, on a proposé d'utiliser la M6G en tant que substitut de la morphine.

On peut, à cet égard, faire référence à la demande internationale WO 95/05831 visant l'utilisation d'une composition pharmaceutique pour administration orale, contenant de la M6G, pour le traitement de la douleur.

La demande internationale WO 99/64430 décrit une méthode pour la

30 synthèse de la M6G et de ses intermédiaires. Le brevet US 5,621,087 décrit un nouveau procédé pour la préparation de la M6G ou de certains de ses dérivés.

La M6G, qui, on l'a vu, présente des propriétés analgésiques comparable à la morphine, a pour avantage de diminuer nausées et vomissements. Toutefois, la M6G ne contribue pas à la suppression d'autres effets indésirables de la morphine, à savoir la dépression respiratoire et le 5 syndrome de dépendance (Osborne et al, 1992. *Br. J. Clin. Pharmac* 34 :130-138).

Le brevet US 6,150,524 décrit des procédés pour la synthèse d'autres dérivés de la morphine, qui sont dits présentés des propriétés analgésiques fortes et qui peuvent être administrés par voie orale.

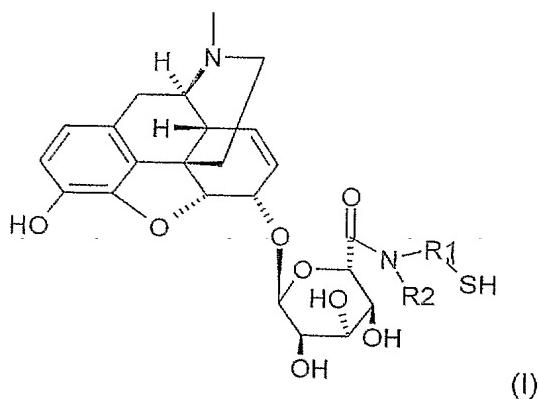
10 Il est également connu que l'association d'un composé se liant aux récepteurs  $\mu$  et d'un composé se liant aux récepteurs  $\kappa$ , présente un effet analgésique puissant sans les effets secondaires de dépendance physique et de dépression respiratoire (Rothman et al 2000 ; J Subst Abuse Treat 19 :277-281 ; Shook et al, 1990 Am Rev Respir Dis 142 :895-909).

15 Cependant, à la connaissance des inventeurs, il n'existe pas d'analgésique d'une efficacité comparable à celle de la morphine ou de la M6G, mais qui ne présente pas, ou moins, d'effets secondaires, notamment en ce qui concerne la dépendance physique et la dépression respiratoire.

La présente invention a alors pour principal objet de nouveaux 20 composés, dérivés de la M6G, qui permettent de résoudre ce problème. Plus particulièrement, les composés de l'invention présentent l'avantage de posséder une affinité pour les récepteurs  $\kappa$  plus grande que la M6G sans pour autant présenter une affinité réduite pour les récepteurs  $\mu$  afin d'obtenir un 25 composé ayant une activité analgésique puissante mais moins d'effets secondaires,

Dans le cadre de leurs travaux de recherche, les inventeurs ont ainsi pu déterminer que la modification de la M6G par substitution à l'aide d'un groupement porteur d'une fonction thiol permet d'augmenter de façon significative l'affinité pour les récepteurs  $\kappa$  sans pour autant diminuer celle pour 30 les récepteurs  $\mu$ .

L'invention concerne ainsi un composé de formule (I)



dans laquelle :

- R<sub>1</sub> représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, non substitué ou substitué par au moins un substituant, la chaîne alkyle étant éventuellement interrompue par un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, S et NH,
- 5

- R<sub>2</sub> représente l'hydrogène, un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> ou un groupe aryle ou hétéroaryle monocyclique ou (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)alkylaryl, non substitué ou substitué par un alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

10 Lorsque R<sub>1</sub> représente un groupe alkyle substitué par un ou plusieurs substituants, le (ou les) substituant(s) est (sont) par exemple choisi(s) parmi : un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>; amino ; carboxyle, carboxylamino ; -COOR<sub>3</sub> où R<sub>3</sub> représente l'hydrogène, ou un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>; une cétone en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>; un aldéhyde en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>.

15 Lorsque R<sub>2</sub> représente un groupe aryle ou hétéroaryle monocyclique, celui-ci peut par exemple être choisi parmi les groupes phényle, thiophényle, pyridyle, pyrrolyle, pyrazolyle, furanyle, ou indolyle. Lorsque R<sub>2</sub> représente un groupe alkylaryl, celui-ci peut par exemple être le benzyle.

20 Un composé préféré selon l'invention est un composé de formule (I) ci-dessus dans laquelle R<sub>1</sub> représente -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- et R<sub>2</sub> est l'hydrogène. Un tel composé est appelé M6G-cystéamide.

D'autres composés avantageux de formule (I) sont, par exemple, ceux dans lesquels :

- R<sub>1</sub> représente un groupe -CH<sub>2</sub>-CH(COOR<sub>4</sub>)- dans lequel R<sub>4</sub>
- 25 représente hydrogène, méthyle ou éthyle, et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène ;

- R<sub>1</sub> représente un groupe -CH(COOH)-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène ;

- R<sub>1</sub> représente un groupe -CH(NH<sub>2</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH(R<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-, dans lequel R<sub>5</sub> représente -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-COOH, et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène .

L'invention concerne également, selon un aspect ultérieur, un procédé pour la préparation des composés de formule (I).

Ledit procédé comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (II) NHR<sub>2</sub>-R<sub>1</sub>-S-S-R<sub>1</sub>-NHR<sub>2</sub>, dans laquelle R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> sont tels que définis ci-dessus, en présence d'un agent de couplage et à réduire le pont disulfure à l'aide d'un agent réducteur.

De préférence, la réaction de la morphine-6-glucuronide avec le composé de formule (II) a lieu en milieu basique.

On utilisera par exemple un composé de formule (II) dans laquelle R<sub>2</sub> est l'hydrogène et R<sub>1</sub> représente un groupe -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, dénommé cystamine .

A titre d'agent de couplage, on peut citer les agents de couplages habituellement utilisés en synthèse peptidique, tels que le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), la dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la DCC associée à l'hydroxybenzotriazole (DCC/HOBT) ou la diisopropylcarbodiimide associée à l'HOBT (DIPCDI/HOBT).

On utilisera de préférence l'agent de couplage en excès molaire d'environ 2,2 à 4 équivalents molaires pour 1 équivalent molaire de composé de formule (II).

Le couplage est de préférence réalisé à température ambiante, dans un solvant polaire tel que par exemple le diméthylformamide (DMF), la N-méthylpyrrolidone (NMP), le dichlorométhane ou l'acétonitrile.

A titre d'agent réducteur, on peut citer par exemple la tris(2-carboxyéthyl)phosphine, la triphénylphosphine, la tris(hydroxyméthyl)-phosphine ou le dithiothréitol.

On utilisera de préférence l'agent réducteur en excès molaire d'environ 1,1 à 5 équivalents.

La réduction a lieu de préférence à température ambiante et à un pH inférieur à 7.

Selon un autre aspect de l'invention, le composé de formule (I) peut être obtenu par un procédé comprenant les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (III)  $\text{NHR}_2\text{-R}_1\text{-SH}$ , dans laquelle  $\text{R}_1$  et  $\text{R}_2$  sont tels que définis ci-dessus, en présence d'un agent de couplage et à réduire *in situ* les sous-produits d'oxydation à l'aide d'un agent réducteur.

De préférence, la réaction de la morphine-6-glucuronide avec le composé de formule (III) a lieu en milieu basique.

On peut notamment utiliser un composé de formule (III) dans laquelle  $\text{R}_2$  est l'hydrogène et  $\text{R}_1$  représente un groupe  $-(\text{CH}_2)_2-$ , dénommé cystéamine. A titre d'exemples de composés de formule (III), on peut également citer la pénicillamine ou la glutathione.

A titre d'agent de couplage, on peut utiliser les agents de couplages habituellement utilisés en synthèse peptidique, tels que ceux cités ci-dessus.

On utilisera de préférence l'agent de couplage en excès molaire d'environ 1,1 à 2 équivalents molaires pour 1 équivalent molaire de morphine-6-glucuronide.

Le couplage est de préférence réalisé à température ambiante, dans un solvant polaire tel que par exemple le diméthylformamide (DMF), la N-méthylpyrrolidone (NMP), le dichlorométhane ou l'acétonitrile.

L'agent réducteur peut être choisi parmi les agents réducteurs habituellement utilisés en chimie peptidique tels que ceux cités ci-dessus.

On utilisera de préférence l'agent réducteur en excès molaire d'environ 1,1 à 5 équivalents.

La réduction a lieu de préférence à température ambiante et à un pH inférieur à 7.

L'invention concerne également une composition pharmaceutique contenant à titre de principe actif un composé de formule (I) tel que décrite ci-dessus ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, et un au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Par "sel pharmaceutiquement acceptable", on entend par exemple et de manière non limitative un acétate, un sulfate ou un chlorhydrate.

Avantageusement, la composition pharmaceutique selon l'invention se présentera sous une forme appropriée pour une administration :

5 - par voie parentérale, comme par exemple, sous forme de préparations injectables par voie sous-cutanée, intraveineuse ou intramusculaire;

10 10 - par voie orale, comme par exemple, sous forme de comprimés enrobés ou non, de gélules, de poudres, de granulés, de suspensions ou de solutions orales. Une telle forme pour l'administration par voie orale peut être soit à libération immédiate, soit à libération prolongée ou retardée. De telles formes à libération prolongée ou retardée sont décrites, par exemple, dans les demandes EP 253 104 ou EP 576 643 ;

15 15 - par voie rectale, comme par exemple, sous forme de suppositoires ;

- par voie topique, notamment transdermique, comme par exemple, sous la forme de "patch", de pommade ou de gel.

- par voie intranasale, comme par exemple sous forme d'aérosols et "sprays",

20 - par voie perlinguale,  
- par voie intraoculaire.

Le véhicule pharmaceutiquement acceptable peut être choisi parmi les véhicules utilisés de manière classique selon chacun des modes d'administration .

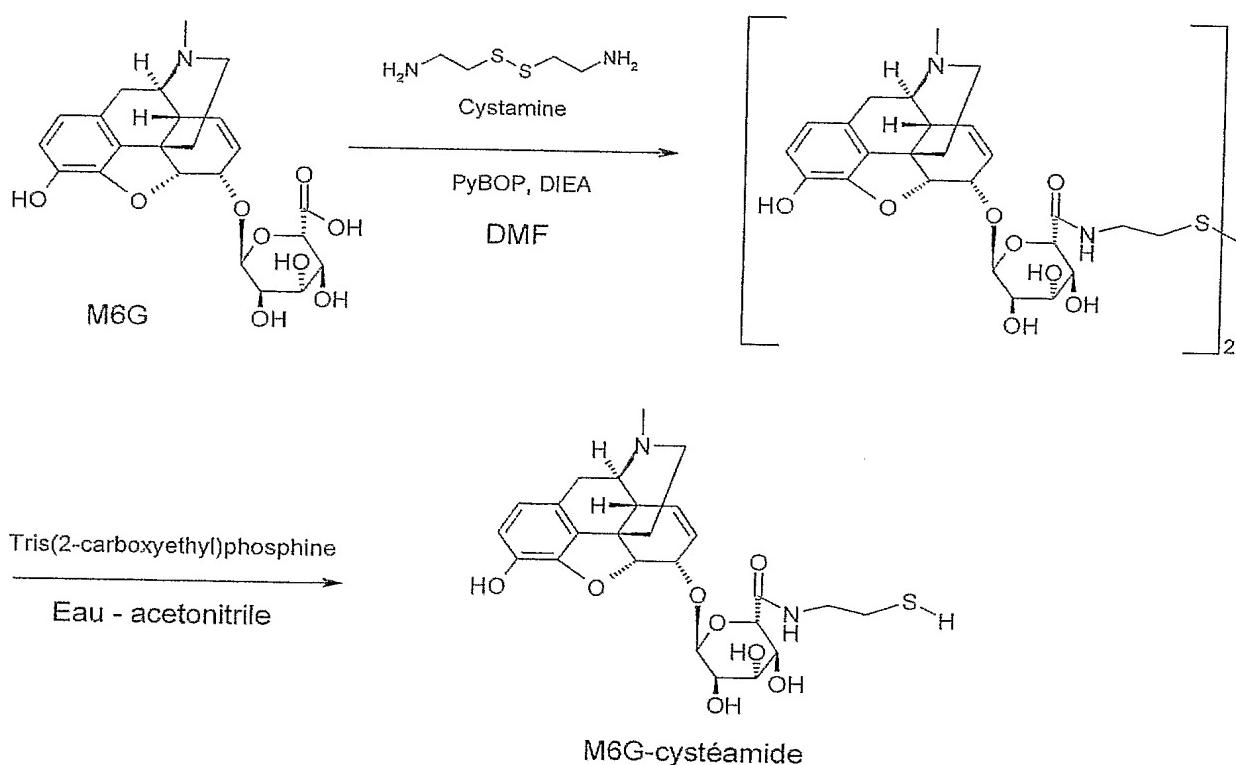
25 L'invention concerne également l'utilisation d'un composé de formule (I) ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables pour la fabrication d'un médicament utile pour le traitement de la douleur, en particulier pour le traitement de douleurs aiguës ou des douleurs chroniques, de douleurs neuropathiques, musculaires, osseuses, post-opératoires, de la migraine, les 30 douleurs du cancer, les lombalgies, les douleurs arthrosiques, les douleurs associées au diabète ou les douleurs associées au SIDA.

L'invention est illustrée de manière non limitative par les exemples ci-dessous.

**Exemple 1 : synthèse de la M6G-cystéamide**

5

La synthèse a été réalisée selon le schéma ci-dessous.



10

Dans un réacteur (tube falcon) on a solubilisé 1 équivalent molaire de cystamine sous sa forme chlorhydrate dans du diméthylformamide (DMF) à 15 g/l, puis on a ajouté 4 équivalents molaires de diisopropyléthylamine (DIEA). On a vérifié que le pH était basique ( $\geq 9$ ).

On a additionné 2 équivalents molaires de M6G en poudre, 2,4  
 15 équivalents molaires de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP) préalablement solubilisé dans du DMF à 100 g/l, puis on a vérifié que le pH était toujours basique.

On a laissé réagir pendant 2h sous agitation à température ambiante. La réaction a été suivie par HPLC et Spectrométrie de Masse (MS).

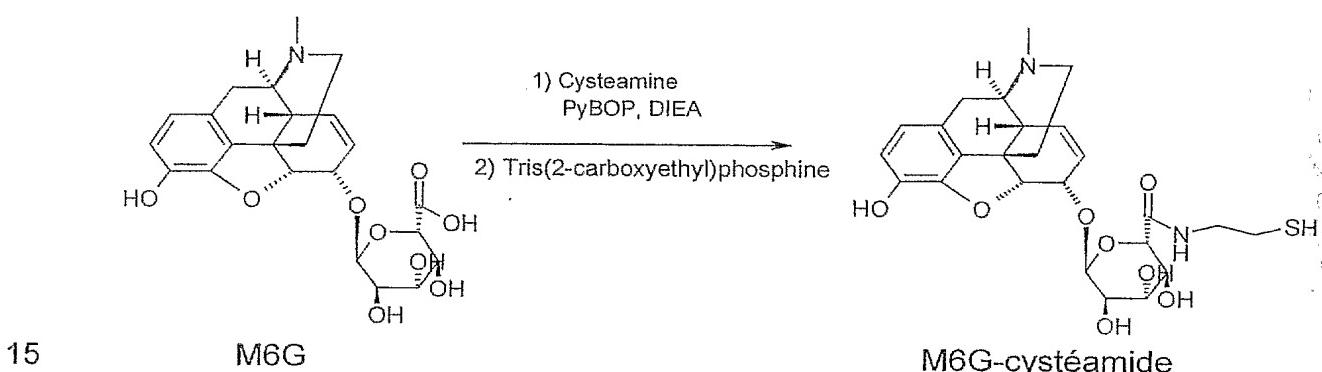
On a alors réduit le pont disulfure par la Tris(2-carboxyéthyl)phosphine (3 équivalents molaires) à 30 mg/ml dans un mélange acétonitrile/H<sub>2</sub>O (50/50), acide trifluoroacétique 0,1%). La réaction est suivie par HPLC et MS. Après 12h de réaction sous agitation, le produit brut est alors purifié par HPLC préparative .

On obtient après lyophilisation le produit M6G-cystéamide avec un rendement global de l'ordre de 70%.

10

#### **Exemple 2 : synthèse de la M6G-cystéamide**

La synthèse a été réalisée selon le schéma ci-dessous



Dans un réacteur (tube falcon) on a solubilisé 4 équivalents molaires de cystéamine sous sa forme chlorhydrate dans du DMF à 15 g/l, puis on a ajouté 4 équivalents molaires de DIEA. On a vérifié que le pH était basique ( $\geq 9$ ).

Après 2h de réaction, on a additionné 1 équivalent molaire de M6G en poudre, 1,2 équivalent molaire de PyBOP préalablement solubilisé dans du DMF à 100 g/l, puis on a vérifié que le pH était toujours basique.

On a laissé réagir pendant 2h sous agitation. La réaction a été suivie par HPLC et Spectrométrie de Masse (MS).

On a alors réduit le pont disulfure des sous-produits d'oxydation, générés lors du couplage en milieu basique, au moyen de Tris(2-carboxyéthyl)phosphine (3 équivalents molaires) à 30 mg/ml dans un mélange acétonitrile/H<sub>2</sub>O (50/50), acide trifluoroacétique 0,1%). La réaction a été suivie 5 par HPLC et MS. Après 12h de réaction sous agitation, le produit brut est purifié par HPLC .

On a obtenu, après lyophilisation, le produit M6G-cystéamide avec un rendement global de l'ordre de 70%.

10

### Exemple 3 : étude de l'effet analgésique

Pour cette étude, on a utilisé le test dit de " tail flick ".

Ce test consiste à placer la queue d'une souris devant une source d'infrarouge à un temps donné après l'administration du produit testé, pris comme temps 0. La lumière est focalisée sur la surface ventrale de la queue de 15 façon à produire une température de surface de 55°C. On mesure alors le temps de latence entre l'administration du produit testé et le moment où la souris bouge la queue.

Les composés étudiés, à savoir la M6G et la M6G-cystéamide ont été administrés par voie sous-cutanée à une dose de 2 mg/kg (10 souris par 20 groupe). Trois mesures ont été faites avant administration du produit testé pour avoir un temps de base. Le temps de latence pour une même souris a été mesuré à différents temps allant de 15 min à 240 min après l'injection du produit. Un temps maximum de 10 s a été choisi comme temps maximum de réaction.

25

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 1. Ces résultats montrent que la M6G et la M6G-cystéamide ont une activité analgésique similaire. Ainsi, le groupe cystéamide n'altère pas l'activité analgésique du produit.

30

### Exemple 4 : étude de l'affinité aux récepteurs opioïdes

#### 4.1/ Mode opératoire

On a comparé l'affinité de la M6G à celle de la M6G-cystéamide pour les récepteurs opioïdes  $\mu$  (mu) et  $\kappa$  (kappa).

Pour déterminer l'affinité aux récepteurs  $\mu$ , des homogénats de membrane du cortex cérébral du rat (200 $\mu$ g de protéine) ont été incubés avec soit la M6G, soit la M6G-cystéamide et 1 nM de [ $^3$ H][D-Ala<sup>2</sup>, MePhe<sup>4</sup>, Gly(ol)<sup>5</sup>]enkephalin (DAMGO) pendant 60 min à 22°C dans un tampon contenant 50 mM Tris-HCl [pH 7,7].

Pour déterminer l'affinité aux récepteurs  $\kappa$ , des homogénats de membrane de cervelet du cobaye (250  $\mu$ g de protéine) ont été incubés avec soit la M6G, soit la M6G-cystéamide et 0,7 nM [ $^3$ H]U 69593 (80 min à 22°C) dans un tampon contenant 50 mM Tris-HCl [pH 7,4], 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA.

On a utilisé des concentrations en M6G et M6G-cystéamide de 10<sup>-10</sup> à 10<sup>-6</sup> M.

La liaison non spécifique a été déterminée grâce à l'addition aux ligands marqués de 10  $\mu$ M naloxone.

Après incubation, les échantillons ont été filtrés sur des fibres de verre (GF/B, Packard) préalablement incubées avec 0,3% de polyéthylèneimine et rincées plusieurs fois avec 50 mM de Tris-HCl froid en utilisant un "96-sample cell harvester" (Unifilter, Packard). Les filtres ont été ensuite séchés et la radioactivité comptée.

#### 4.2/ Résultats

Les résultats sont rapportés dans le tableau 1 ci-dessous .

Tableau 1 : Affinité aux récepteurs  $\mu$  et  $\kappa$   
 (Ki exprimé en nM).

| composé        | récepteurs $\mu$ | récepteurs $\kappa$ |
|----------------|------------------|---------------------|
| M6G            | 3,8              | 1860                |
| M6G-cystéamide | 0,32             | 2,7                 |

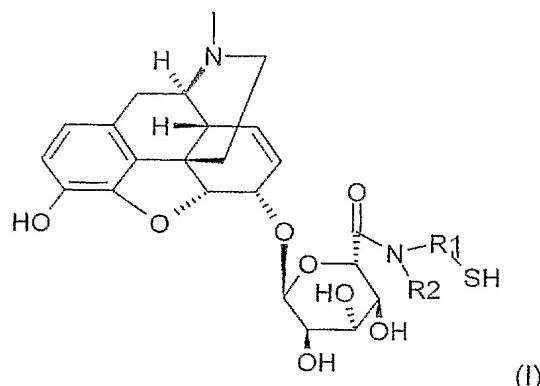
5 Les résultats montrent que :

- la M6G se lie aux récepteurs  $\mu$  avec un Ki= de 3,8 nM indiquant une affinité pour ces récepteurs. En revanche, la valeurs de Ki pour les récepteurs  $\kappa$ , de l'ordre de 1860 nM indiquent qu'aucune affinité n'est observée pour ces récepteurs.

10 - l'affinité de la M6G-cystéamide pour les récepteurs  $\kappa$  (Ki = 2,7) est augmentée de façon spectaculaire par rapport à celle de la M6G (environ 600 fois), du fait de l'adjonction du groupement cystéamide, sans que l'affinité pour les récepteurs  $\mu$  ne diminue . On observe même une augmentation de cette affinité d'un facteur 10 environ .

REVENDICATIONS

## 1. Composé de formule (I)



5 dans laquelle :

- R<sub>1</sub> représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, substitué ou non par au moins un substituant, la chaîne alkyle étant éventuellement interrompue par un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, S et NH,

10 - R<sub>2</sub> représente l'hydrogène, un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> ou un groupe aryle ou hétéroaryle monocyclique ou (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)alkylaryl, non substitué ou substitué par un alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

ainsi qu'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R<sub>1</sub>  
15 représente -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- et R<sub>2</sub> est l'hydrogène.

3. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les composés de formule (I) dans laquelle :

- R<sub>1</sub> représente un groupe -CH<sub>2</sub>-CH(COOR<sub>4</sub>)- dans lequel R<sub>4</sub> représente hydrogène, méthyle ou éthyle, et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène ; ou

20 - R<sub>1</sub> représente un groupe -CH(COOH)-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>- et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène ; ou

- R<sub>1</sub> représente un groupe -CH(NH<sub>2</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH(R<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>- , dans lequel R<sub>5</sub> représente -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-COOH, et R<sub>2</sub> représente l'hydrogène .

4. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (II)  $\text{NHR}_2\text{-R}_1\text{-S-S-R}_1\text{-NHR}_2$ , dans laquelle  $\text{R}_1$  et  $\text{R}_2$  sont tels que définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 3, en présence d'un agent de couplage, et à réduire le pont disulfure à l'aide d'un agent réducteur.

5. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (III)  $\text{NHR}_2\text{-R}_1\text{-SH}$ , dans laquelle  $\text{R}_1$  et  $\text{R}_2$  sont tels que définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 3, en présence d'un agent de couplage et à réduire *in situ* les sous-produits d'oxydation à l'aide d'un agent réducteur.

6. Procédé selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce que l'agent de couplage est choisi parmi que le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), la dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la DCC associée à l'hydroxybenzotriazole (DCC/HOBT) et la diisopropylcarbodiimide associée à l'HOBT (DIPCDI/ HOBT).

7. Procédé selon l'une des revendications 4 à 6, caractérisé en ce que l'agent réducteur est choisi parmi la tris(2-carboxyéthyl)phosphine, la triphénylphosphine, la tris(hydroxyméthyl)-phosphine et le dithiothréitol.

8. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle contient un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

25 9. Composition pharmaceutique selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme administrable par voie parentérale.

30 10. Composition pharmaceutique selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de préparation injectable par voie sous-cutanée, intraveineuse ou intramusculaire.

11. Composition pharmaceutique selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme administrable par voie orale.

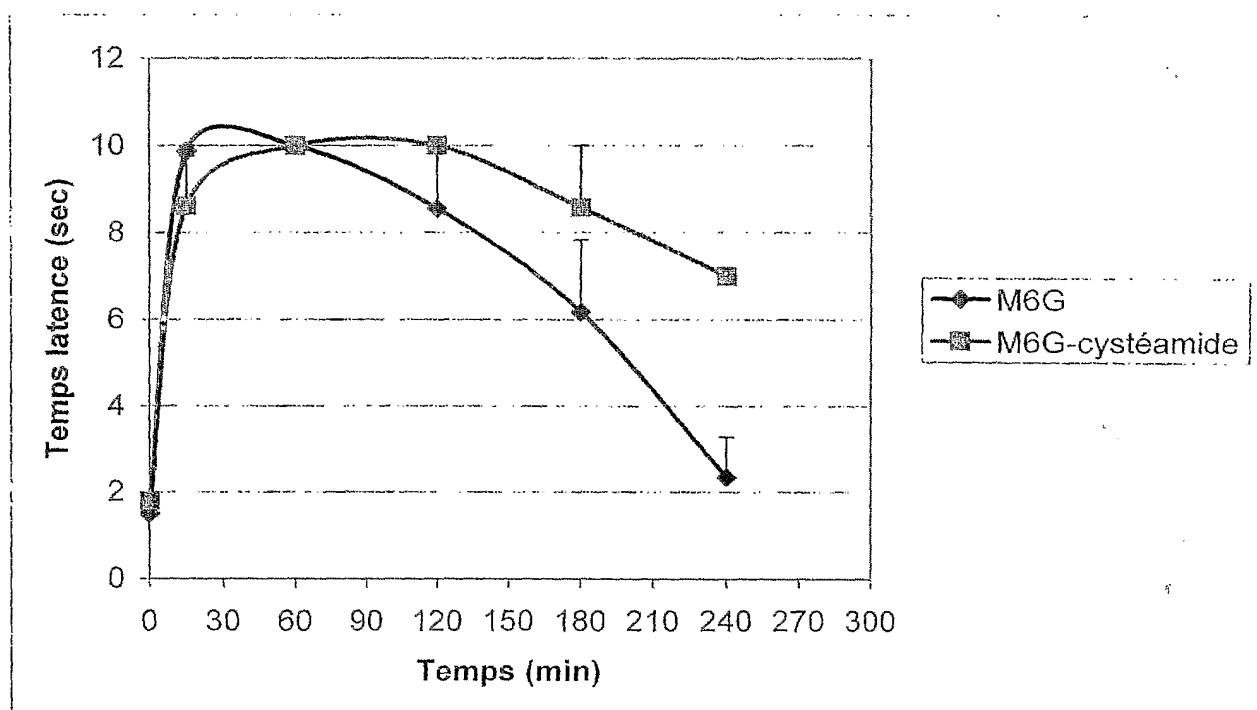
12. Composition pharmaceutique selon la revendication 11,  
5 caractérisée en ce qu'elle présente une activité prolongée ou retardée.

13. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 ou d'une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 8 à 11, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement de la douleur.

1/1

FIGURE 1

5



**DÉPARTEMENT DES BREVETS**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
 75800 Paris Cedex 08  
 Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**BREVET D'INVENTION****CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

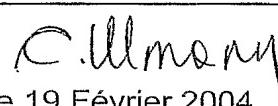
  
 N° 11235\*03
**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1/1

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 2/0601



|  |                      |  |                  |
|--|----------------------|--|------------------|
| <b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>   |                      | BIF116197/FR   |                  |
| <b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>  |                      | 0315160  |                  |
| <b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)  |                      |  |                  |
| <p>Nouveau dérivé de la morphine-6-glucuronide, composition pharmaceutique le contenant et son utilisation pour le traitement de la douleur.</p>                             |                      |  |                  |
| <b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>  |                      |  |                  |
| SYNT : EM  |                      |  |                  |
| <b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b>   |                      |  |                  |
| <b>1</b> Nom<br>TEMSAMANI  |                      | Prénoms<br>Jamal   |                  |
| Adresse  | Rue                  | 370, rue Etienne Ozi,  |                  |
|  | Code postal et ville | 1310900  | NIMES, France    |
| Société d'appartenance (facultatif)  |                      |  |                  |
| <b>2</b> Nom<br>LAHANA   |                      | Prénoms<br>Roger   |                  |
| Adresse  | Rue                  | 9 chemin du Puits de Roulle,   |                  |
|  | Code postal et ville | 13019100   | NIMES, France    |
| Société d'appartenance (facultatif)  |                      |  |                  |
| <b>3</b> Nom<br>MOUCHET  |                      | Prénoms<br>Patrick   |                  |
| Adresse  | Rue                  | 6 rue des Saladelles,  |                  |
|  | Code postal et ville | 1310300  | FOURQUES, France |
| Société d'appartenance (facultatif)  |                      |  |                  |
| S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.                                      |                      |  |                  |
| <b>DATE ET SIGNATURE(S)<br/>                     DU (DES) DEMANDEUR(S)<br/>                     OU DU MANDATAIRE<br/>                     (Nom et qualité du signataire)</b> |                      | <br>Le 19 Février 2004<br>Catherine ULMANN N° 02.0405 |                  |
| SANTARELLI   |                      |  |                  |

407/FR 04/03 3342

